

(19)日本国特許庁 (J P)

(12) 公開特許公報 (A)

(11)特許出願公開番号
特開2001-99847
(P2001-99847A)

(43)公開日 平成13年4月13日 (2001.4.13)

(51)Int.Cl. ⁷	識別記号	F I	テーマコード*(参考)
G 0 1 N	35/10	C 1 2 Q 1/68	A 2 G 0 5 8
C 1 2 N	15/09	C 0 1 N 33/53	M 4 B 0 2 4
C 1 2 Q	1/68	33/566	4 B 0 6 3
G 0 1 N	33/53	35/02	F
33/566		35/06	H
審査請求 未請求 請求項の数 4 O L (全 7 頁) 最終頁に続く			

(21)出願番号 特願平11-279090

(22)出願日 平成11年9月30日 (1999.9.30)

(71)出願人 000005201

富士写真フイルム株式会社
神奈川県南足柄市中沼210番地

(72)発明者 小倉 信彦

神奈川県足柄上郡開成町宮台798番地 富
士写真フイルム株式会社内

(74)代理人 100073184

弁理士 柳田 征史 (外1名)

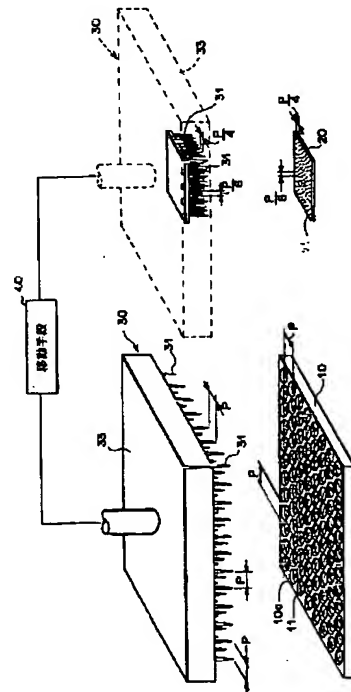
Fターム(参考) 2G058 AA09 CC02 EA04 EA11 EA14
ED17 HA00
4B024 AA20 HA12
4B063 QA01 QA17 QA18 QQ42 QQ52
QR55 QR82 QS34 QX01

(54)【発明の名称】 マイクロアレイチップ製造装置

(57)【要約】

【課題】 マイクロアレイチップ製造装置において、特異的結合物質のスポット作業時間を従来よりも短縮する。

【解決手段】 二次元状に縦8個×横12個の特異的結合物質孔10aがピッチPで二次元状に形成されたマイクロタイタプレート10の当該各特異的結合物質孔10aに貯蔵されている特異的結合物質11を採取するとともに、採取した特異的結合物質11をスライドガラス20上に点状にスポットする、配列されたピン31と、これらのピン31のピッチを変える間隔変更手段33とを有するヘッド30、およびこのヘッド30をマイクロタイタプレート10からスライドガラス20までの間を移動させる移動手段40を備える。



【特許請求の範囲】

【請求項1】 所定の間隔で1次元状または2次元状に配置された多数の特異的結合物質を採取する、前記所定の間隔で配列された2以上の採取ピンまたは採取ノズルを備え、前記採取ピンまたは前記採取ノズルにより採取された前記特異的結合物質を、前記所定の間隔よりも狭い高密度間隔に、平板状のチップ上にスポットするマイクロアレイチップ製造装置において、前記2以上の採取ピンまたは前記採取ノズルの間隔が前記所定の間隔と前記高密度間隔との間で可変になるように、該採取ピンまたは該採取ノズルが設けられているとともに、前記可変とされた採取ピンまたは採取ノズルの間隔を、前記特異的結合物質の採取のときは前記所定の間隔とし、前記スポットのときは前記高密度間隔とするように、前記採取ピンまたは前記採取ノズルを移動させる間隔変更手段をさらに備えたことを特徴とするマイクロアレイチップ製造装置。

【請求項2】 前記特異的結合物質が生物由来の物質であることを特徴とする請求項1記載のマイクロアレイチップ製造装置。

【請求項3】 前記生物由来の物質がcDNAであることを特徴とする請求項2記載のマイクロアレイチップ製造装置。

【請求項4】 前記採取ピンまたは採取ノズルが、前記配置された特異的結合物質と同数備えられているものであることを特徴とする請求項1から3のうちいずれか1項に記載のマイクロアレイチップ製造装置。

【発明の詳細な説明】

【0001】

【発明の属する技術分野】本発明はDNA解析、免疫学的解析等に用いられるマイクロアレイチップの製造装置に関し、詳細には、チップ上へ特異的結合物質をスポットする構造の改良に関するものである。

【0002】

【従来の技術】近年、遺伝子工学分野における技術が急速に発展し、10万個にも及ぶと考えられているヒトゲノムの塩基配列を解読することを1つの目的とするヒトゲノムプロジェクトが展開されており、その中でも特に、抗原抗体反応を利用する酵素免疫測定法や蛍光抗体法等が診断や研究のために利用され、また各種遺伝子疾患に影響を与えているDNAを探索する研究が進んでおり、その1つの方法としてマイクロアレイ技術が注目されている。

【0003】このマイクロアレイ技術は、図5に示すような、既に解読されている互いに異なる既知の多数のcDNA（生物由来物質などの特異的結合物質の一例）がメンブレンフィルタやスライドガラス等のチップ上にマトリックス状に高密度（数100 μ m以下の間隔）に予めスポットされたマイクロアレイチップ（DNAチップとも称する）を用いる技術であり、例えば、蛍光色素aで

標識された健康者Aの細胞から取り出したDNA（生物由来物質の一例）および蛍光色素bで標識された、遺伝子疾患を有する検体Bの細胞から取り出したDNAを、ピペット等でこのマイクロアレイチップに滴下して各検体のDNAと、マイクロアレイチップ上のcDNAとをハイブリダイズさせ、後にこのマイクロアレイチップ上の各cDNAに、各蛍光色素a、bを各別に励起する励起光を走査して各cDNAごとの各蛍光を光検出器で検出し、マイクロアレイチップ上における蛍光の発光位置に対応付けられたこの検出結果により、各検体のDNAがいずれのcDNAとハイブリダイズされているかを求め、両検体間でハイブリダイズされたDNAを比較することにより、上記疾病により発現したDNAまたは欠損したDNAを特定する技術であり、その疾病と特定されたDNAとの対応づけにより、遺伝子治療に役立てることができる。

【0004】ところで上記マイクロアレイチップは、上述したように極めて多数のcDNA等の特異的結合物質がメンブレンフィルタやスライドガラス等のチップ上に高密度にスポットされたものであるが、このスポットは図3に示すように、マイクロアレイチップ製造装置（スポッターまたはアレイヤー）によってなされている。

【0005】すなわちこのマイクロアレイチップ製造装置は、例えばチップ20上にスポットされる特異的結合物質11のピッチよりも大きいピッチPで2次元状に形成された多数の特異的結合物質孔10aのそれぞれに、スポットしようとする各特異的結合物質11が予め貯留されたマイクロタイタープレート10を用いるものであり、マイクロタイタープレート10の特異的結合物質孔10aのピッチPと等しいピッチPの、例えば縦2本×横2本（計4本）の特異的結合物質採取ピン31が設けられたスポットヘッド30と、このスポットヘッドを移動させる移動手段とを備えた構成である。

【0006】ここでマイクロタイタープレート10は縦8cm×横12cm程度の大きさであり、このマイクロタイタープレート10に形成されている特異的結合物質孔10aの数は、通常、縦8個×横12個（計96個）から縦32個×横48個（計1536個）程度である。一方、特異的結合物質11がスポットされるチップ20は縦2cm×横2cm程度の大きさである。以下、縦8個×横12個の特異的結合物質孔10aが形成されたマイクロタイタープレート10を用いて96個の特異的結合物質11をチップ20にスポットするマイクロアレイチップ製造装置の作用を説明する。

【0007】このマイクロアレイチップ製造装置による特異的結合物質11のチップ20へのスポットは、マイクロタイタープレート10の多数の特異的結合物質孔10aのうち、まず図示左上の縦2個×横2個（計4個）の特異的結合物質孔10aに4本の採取ピン31が一致するように、移動手段によりスポットヘッド30を移動

させ、その後に、スポットヘッド30を下降させることにより、4本の採取ピン31をそれぞれ対応する特異的結合物質孔10aに入れて各ピン31にそれぞれ特異的結合物質11を付着させる。次いでヘッド30を上昇させてチップ20上に移動させ、各採取ピン31がチップ20に当接するまでヘッド30を下降させる。これによってチップ20には、図4(1)(×印を付した○印は、採取ピン31を入れた特異的結合物質孔10aを示す)に示すように、各採取ピン31に付着していた特異的結合物質11が点状にスポットされる。なお、多数のアレイチップを製造するときは、以上の動作をその製造しようとするアレイチップの数だけ繰り返せばよい。

【0008】次に最初の特異的結合物質孔10aの右隣の4個(最上段の左から3番目、最上段の左から4番目、上から2段目の左から3番目および、上から2段目の左から4番目;図4(2))の各特異的結合物質孔10aに貯留された特異的結合物質11を採取するが、各特異的結合物質孔10aに貯留されている特異的結合物質11は通常それぞれ異なるため、採取ピン31に付着している前の試料が混ざらないように、次の採取に先だって採取ピン31を超音波洗浄、乾燥させる必要がある。そしてこの洗浄・乾燥の後に上記右隣の4個の特異的結合物質孔10aに各採取ピン31を入れて特異的結合物質11を採取し、チップ20上において、先にスポットした特異的結合物質11とのピッチが採取ピン31のピッチPよりも小さく(例えば、 $P/6$)なるように、ヘッド30を移動してチップ20に特異的結合物質11をスポットする。

【0009】以上の採取・スポット・洗浄・乾燥の工程を繰り返して、採取ピン31が図示右上4個(最上段の右から2番目、最上段の右から1番目、上から2段目の右から2番目および、上から2段目の右から1番目)の各特異的結合物質孔10aの特異的結合物質までスポットが完了したときには、チップ20上には図4(3)に示すように特異的結合物質11がスポットされた状態となる。

【0010】次いで、上から3段目と4段目の縦2個×横2個の各特異的結合物質孔10aに採取ピン31を入れて特異的結合物質11を採取し、チップ20上において、先にスポットした特異的結合物質11とのピッチが採取ピン31のピッチPよりも小さく(例えば、 $P/4$)なるように、ヘッド30を移動してチップ20に特異的結合物質11をスポットする。横方向へスポットをずらすピッチは上述した通り $P/6$ とし、下方向へスポットをずらすピッチは $P/4$ として、採取ピン31が図示右下4個の特異的結合物質孔10aの特異的結合物質までスポットが完了したときには、チップ20上には図4(4)に示すように特異的結合物質11がスポットされてスポットが完了する。

【0011】

【発明が解決しようとする課題】ところで、上述した従来のマイクロアレイチップ製造装置によれば、4個の特異的結合物質をスポットする都度、採取ピンの洗浄と乾燥とを行う必要があるが、1個のチップ20に全ての特異的結合物質11をスポットするまでの間に上述した例においては24回(=96個/4個)この洗浄・乾燥作業を行う必要がある。さらに、1536個の特異的結合物質孔10aを有するマイクロタイタープレートを用いた場合には、384回(=1536個/4個)も洗浄・乾燥作業を行う必要があり、この作業に非常に多くの時間が費やされ、スポット作業の効率が悪い。

【0012】また上記洗浄によって、付着している特異的結合物質を完全に洗浄できるとは限らず、特異的結合物質の汚染が生じる虞もある。

【0013】本発明は上記事情に鑑みなされたものであって、特異的結合物質のスポット作業時間を従来よりも短縮することを可能にしたマイクロアレイチップ製造装置を提供することを目的とするものである。

【0014】

【課題を解決するための手段】本発明のマイクロアレイチップ製造装置は、配置された特異的結合物質を採取する多数の採取ピン間または採取ノズル間の間隔を、特異的結合物質を採取するときと、チップにスポットするときとで変更するようにしたものである。

【0015】すなわち本発明のマイクロアレイチップ製造装置は、所定の間隔で1次元状または2次元状に配置された多数の特異的結合物質を採取する、前記所定の間隔で配列された2以上の採取ピンまたは採取ノズルを備え、前記採取ピンまたは前記採取ノズルにより採取された前記特異的結合物質を、前記所定の間隔よりも狭い高密度間隔に、平板状のチップ上にスポットするマイクロアレイチップ製造装置において、前記2以上の採取ピンまたは前記採取ノズルの間隔が前記所定の間隔と前記高密度間隔との間で可変になるように、該採取ピンまたは該採取ノズルが設けられているとともに、前記可変とされた採取ピンまたは採取ノズルの間隔を、前記特異的結合物質の採取のときは前記所定の間隔とし、前記スポットのときは前記高密度間隔とするように、前記採取ピンまたは前記採取ノズルを移動させる間隔変更手段をさらに備えたことを特徴とするものである。

【0016】ここで、所定の間隔で1次元状または2次元状に配置された多数の特異的結合物質とは、例えば多数の特異的結合物質孔が1次元状または2次元状に配列して形成されたマイクロタイタープレートの当該各特異的結合物質孔に貯留された特異的結合物質などを意味するものであり、その特異的結合物質とは、具体的にはcDNA等の生物由来の物質などである。

【0017】特異的結合物質を配置するものとしてマイクロタイタープレートを用いた場合の、上記所定の間隔とは具体的には1mm～10mm程度の間隔であり、高密度

間隔とは具体的には $100\mu\text{m}$ ～ $500\mu\text{m}$ 程度である。

【0018】また平板状のチップとは、メンブレンフィルタやスライドガラス等の、その上に特異的結合物質がスポットされてマイクロレイチップとして用いられる基板となるものである。

【0019】間隔変更手段としては、採取ピン間または採取ノズル間の間隔を変更することができる構成の手段であれば如何なる公知の手段を適用してもよく、例えば採取ピン同士を伸縮自在の蛇腹で結合しておき、この蛇腹を伸縮させるように、1次元または2次元に展開させる手段などを適用することができる。

【0020】なお採取ピンまたは採取ノズルを、配置された特異的結合物質と同数備え、配置された多数の特異的結合物質の全てを1回の操作で採取するとともに、採取した全ての特異的結合物質を1回の操作でチップ上にスポットするものとするのが好ましい。本発明のマイクロレイチップ製造装置によれば、特異的結合物質の採取・スポットの操作回数を従来よりも大幅に低減することができるため、特異的結合物質の汚染程度を抑制することができるが、特異的結合物質の採取とスポットとを唯1回の操作で完了することができることにより、特異的結合物質の汚染を完全に排除することができるからである。

【0021】

【発明の効果】本発明のマイクロレイチップ製造装置によれば、採取ピンまたは採取ノズルの間隔を、間隔変更手段により、特異的結合物質を採取するときは特異的結合物質の配置間隔とするように、チップにスポットするときはその配置間隔よりも狭い高密度間隔とするように変更することによって、1回の操作で従来よりも多数の特異的結合物質の採取およびスポットを行うことができ、特異的結合物質のスポット作業時間を従来よりも短縮することができる。

【0022】

【発明の実施の形態】以下、本発明のマイクロレイチップの製造装置の具体的な実施の形態について図面を用いて説明する。

【0023】図1は、本発明のマイクロレイチップの製造装置の一実施形態の構成を示す概略斜視図である。図示のマイクロレイチップ製造装置は、2次元状に縦8個×横12個の特異的結合物質孔10aがピッチPで2次元状に形成されたマイクロタイタープレート10の当該各特異的結合物質孔10aに貯蔵されている特異的結合物質11を採取するとともに、採取した特異的結合物質11をスライドガラス20上に点状にスポットするピン31が配列されたヘッド30と、このヘッド30をマイクロタイタープレート10からスライドガラス20までの間を移動させる移動手段40とを備えた構成である。

【0024】ここでヘッド30に配列されているピン31は、マイクロタイタープレート10に形成されている特異的結合物質孔10aと同様に縦8本×横12本の合計96本であり、これらの各ピン31は、それらの間のピッチが可変となるように設けられている。この可変ピッチの範囲は、横方向については特異的結合物質孔10a間のピッチPからその $1/6$ のピッチ($P/6$)の範囲であり、縦方向については特異的結合物質孔10a間のピッチPからその $1/4$ のピッチ($P/4$)の範囲である。

【0025】ヘッド30は、これらのピン31のピッチを変える間隔変更手段33をさらに備えている。この間隔変更手段33によるピン31間ピッチの変更内容は、具体的には、マイクロタイタープレート10から特異的結合物質11を採取するときはピッチをPとし、採取した試料11をスライドガラス20にスポットするときは横方向については $P/6$ 、縦方向については $P/4$ とするものである。

【0026】間隔変更手段33は具体的には例えば図2に示すように、ブラインドの開閉機構と同様な機構によって構成されている。なお図2においては図の煩雑さを避けるために、ピン31(図2においては31a, 31b, 31cとして表記している)の数を減らすとともに、一部の要素を省略している。

【0027】図2において、横方向に配列されたピン31a, 31b, 31cは、それぞれスライダ33d, 33e, 33fに固定されており、各スライダ33d, 33e, 33fは支持軸33a上を図示左右方向に移動自在とされている。さらにスライダ33d, 33e, 33fには支持軸33aと平行に設けられた、ネジ溝が形成されたネジ軸33bが緩く貫通している。

【0028】支持軸33aの右端には、ネジ軸33bのネジ溝と螺合した、ネジ軸33bの回転により支持軸33a上を左右方向に移動する案内スライダ33cが設けられている。また案内スライダ33cおよびスライダ33d, スライダ33dおよびスライダ33e, スライダ33eおよびスライダ33fはそれぞれ、鎖33g, 33h, 33iによって結束されている。

【0029】さらに、支持軸33aおよびこの支持軸33aと同様にピンが固定されたスライダがそれぞれ設けられた支持軸33j, 33kは、これらの支持軸33a, 33j, 33kの延びる方向に直交する方向に延びる案内レール34a, 34b上を図示しないモータによってそれぞれ平行に移動されるように構成されている。

【0030】以上のように構成された間隔変更手段33の作用について説明する。図2に示すように各スライダ33c, 33d, 33e, 33f間の各鎖33g, 33h, 33iが張った状態においては、ピン31a, 31b間のピッチおよびピン31b, 31c間のピッチはそれぞれPである。また支持軸33a, 33j間のピッチ

および支持軸33j, 33k間のピッチもPである。

【0031】ここで、ネジ軸33bが図示しないモータによって回転されることによって、このネジ軸33bのネジ溝と螺合した案内スライダ33cが図示左方向に移動する。この移動が進むと案内スライダ33cの左端面がスライダ33dの右端面に当接し、スライダ33dは案内スライダ33cに当接した状態のまま左方向に移動される。さらに移動が進むとスライダ33dの左端面がスライダ33eの右端面に当接し、スライダ33eは案内スライダ33cおよびスライダ33dとともに、スライダ33eの左端面がスライダ33fの右端面に当接するまで一体的に左方向に移動される。このように各スライダ33c, 33d, 33e, 33fが左方向に移動されて当接することにより、ピン31a, 31b間のピッチおよびピン31b, 31c間のピッチはそれぞれスライダ間のピッチであるP/6とされる。なおこのとき、各スライダ33c, 33d, 33e, 33f間の各鎖33g, 33h, 33iは垂れた状態となっている。以上の作用が各支持軸33j, 33kについても同様になされて、ピン31の横方向のピッチが変更される。

【0032】また各支持軸33j, 33kは図示しないモータによって、案内レール34a, 34bに沿って図示手前側に移動されることにより、ピン31の縦方向のピッチがP/4に変更される。

【0033】一方、図示しないモータを逆回転させることによって、ピン31の縦方向のピッチはPに戻り、また、ネジ軸33bを逆回転させることによって、案内スライダ33cがスライダ33dから離れて右方向に移動し、案内スライダ33cとスライダ33d間の鎖33gが張った時点（案内スライダ33cとスライダ33d間の距離がPになった時点）から、スライダ33dは案内スライダ33cに引かれて右方向に移動を開始し、以下同様に、スライダ33dとスライダ33e間の鎖33hが張った時点（スライダ33dとスライダ33e間の距離がPになった時点）から、スライダ33eも案内スライダ33cに引かれて右方向に移動を開始し、スライダ33eとスライダ33f間の鎖33iが張った時点（スライダ33eとスライダ33f間の距離がPになった時点）で、案内スライダ33cが停止して、ピン31の横方向のピッチはPに戻る。

【0034】なお本実施形態においては、隣接するピン31同士を鎖33iで結束したものと示したが、図6に示す蛇腹33zやX字状の可動リンクで結束したものであってもよい。

【0035】次に本実施形態のマイクロアレイチップ製造装置の作用について説明する。

【0036】まず、間隔変更手段33によりピン31間ピッチがPに広げられた状態とされて、移動手段40により、ヘッド30がマイクロタイタープレート10上に移動される。このときヘッド30の各ピン31が、マイ

クロタイタープレート10の対応する各特異的結合物質孔10aに一致する位置となるように、ヘッド30は移動される。

【0037】次いで移動手段40がヘッド30を下降させ、各ピン31は対応する各特異的結合物質孔10aに入り、各ピン31にはそれぞれ特異的結合物質10aに貯留された特異的結合物質11が付着する。各ピン31にそれぞれ特異的結合物質11が付着した後、移動手段40はヘッド30を元の位置まで上昇させ、さらにマイクロアレイチップの基板となるスライドガラス20上にヘッド30を移動させる。

【0038】さらに上述した間隔変更手段33により、ヘッド30の各ピン31の縦方向のピッチがP/4に変更されるとともに、横方向のピッチがP/6に変更される。この間隔変更手段33のピッチ変更作用により、ヘッド30の全てのピン31が同時に2cm角のスライドガラス20の範囲に収まるものとされる。

【0039】次に移動手段40によりヘッド30が下降され、全てのピン31がスライドガラス20の表面に当接し、各ピン31に付着した特異的結合物質11が同時に、点状にスライドガラス20の表面にスポットされる。スポット完了後、ヘッド30は移動手段40により上昇し、特異的結合物質11の採取・スポット操作が完了する。

【0040】以上のように、本実施形態のマイクロアレイチップ製造装置によれば、ピン31の間隔を、間隔変更手段33により、特異的結合物質11を採取するときは特異的結合物質11の配置間隔Pとするように、スライドガラス20にスポットするときはその配置間隔Pよりも狭い高密度間隔（縦方向P/4、横方向P/6）とするように変更することによって、1回の操作で従来よりも多数の特異的結合物質11の採取およびスポットを行うことができ、特異的結合物質11のスポット作業時間を従来よりも短縮することができる。

【0041】さらに本実施形態のマイクロアレイチップ製造装置においては、全ての特異的結合物質11を1回の操作で採取し、1回の操作でスポットすることができるため、複数回の採取・スポット操作を行う場合に生じる虞のある、ピン31の不完全な洗浄による特異的結合物質11の汚染を完全に排除することができる。

【図面の簡単な説明】

【図1】本発明のマイクロアレイチップ製造装置の一実施形態を示す斜視図

【図2】図1に示したマイクロアレイチップ製造装置における間隔変更手段の詳細を示す図

【図3】従来のマイクロアレイチップ製造装置を示す図

【図4】従来のマイクロアレイチップ製造装置による特異的結合物質の採取・スポット操作を説明する図

【図5】マイクロアレイチップを示す斜視図

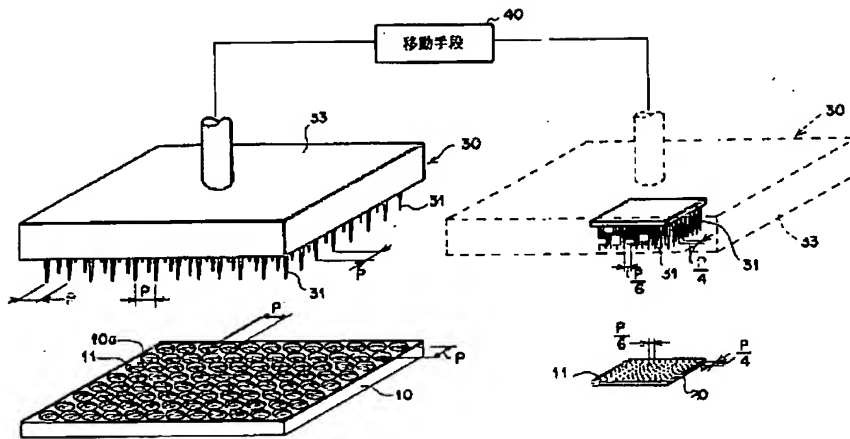
【図6】ピン同士を蛇腹で結束した形態の構成を示す図

【符号の説明】

10 マイクロタイタープレート
10a 特異的結合物質孔
11 特異的結合物質
20 スライドガラス

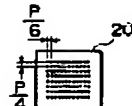
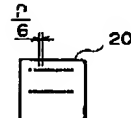
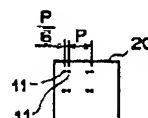
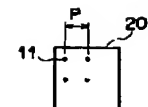
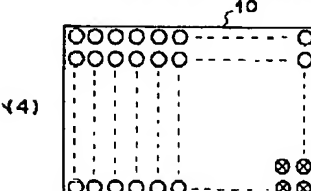
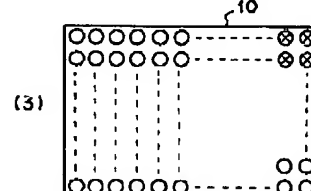
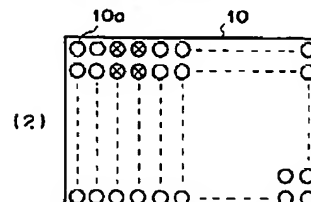
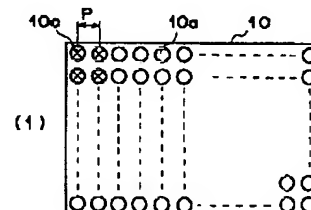
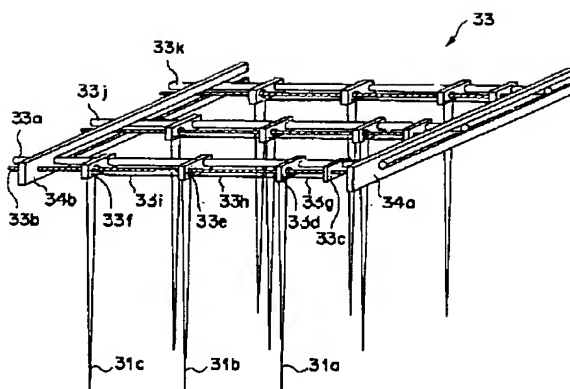
30 ヘッド
31 ピン
33 間隔変更手段
40 移動手段

【図1】

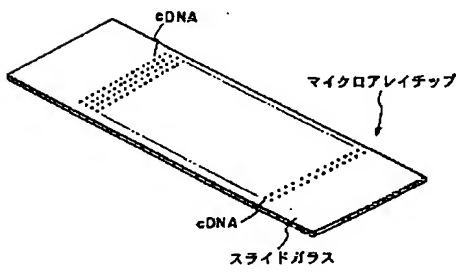


【図2】

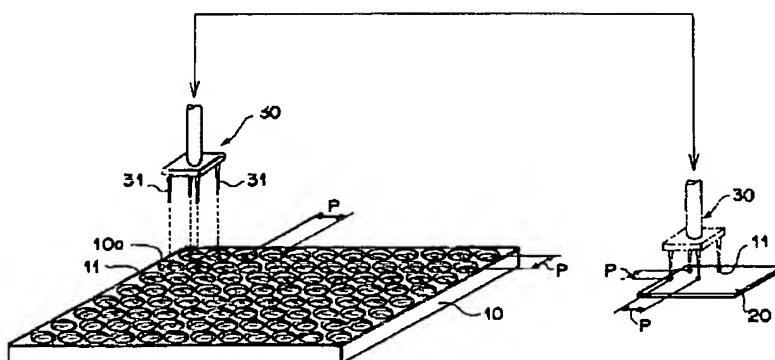
【図4】



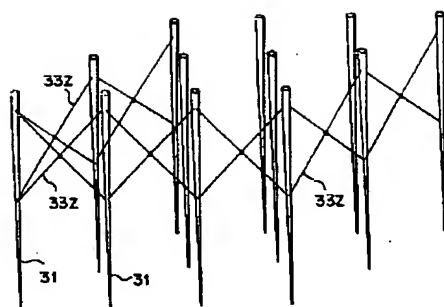
【図5】



【図3】



【図6】



フロントページの続き

(51)Int. Cl.⁷
G 0 1 N 35/02

識別記号

F I
C 1 2 N 15/00

(参考)

A

**This Page is Inserted by IFW Indexing and Scanning
Operations and is not part of the Official Record**

BEST AVAILABLE IMAGES

Defective images within this document are accurate representations of the original documents submitted by the applicant.

Defects in the images include but are not limited to the items checked:

- ☐ **BLACK BORDERS**
- ☐ **IMAGE CUT OFF AT TOP, BOTTOM OR SIDES**
- ☐ **FADED TEXT OR DRAWING**
- ☐ **BLURRED OR ILLEGIBLE TEXT OR DRAWING**
- ☐ **SKEWED/SLANTED IMAGES**
- ☐ **COLOR OR BLACK AND WHITE PHOTOGRAPHS**
- ☐ **GRAY SCALE DOCUMENTS**
- ☐ **LINES OR MARKS ON ORIGINAL DOCUMENT**
- ☐ **REFERENCE(S) OR EXHIBIT(S) SUBMITTED ARE POOR QUALITY**
- ☐ **OTHER:** _____

IMAGES ARE BEST AVAILABLE COPY.

As rescanning these documents will not correct the image problems checked, please do not report these problems to the IFW Image Problem Mailbox.